

Thesis

MUNICH

1964

ÜBER DIE BEWEGLICHKEIT UND
DIE ENTWICKLUNG VON GEISSELN
BEI ENTERITIS-COLI UND
SALMONELLEN UNTER DER
EINWIRKUNG VON CHLORAMPHENICOL
UND TETRACYCLIN

LANE MEDICAL LIBRARY
300 PASTEUR DRIVE
PALO ALTO, CALIF. 94304

GERTRAUD SCHARRER

Aus der Kinderpoliklinik der Universität München

Direktor: Professor Dr. Gerhard Weber

ÜBER DIE BEWEGLICHKEIT UND DIE ENTWICKLUNG VON GEISSELN
BEI ENTERITIS-COLI UND SALMONELLEN UNTER DER EINWIRKUNG
VON CHLORAMPHENICOL UND TETRACYCLIN

Inaugural - Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
verfaßt und einer Hohen Medizinischen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von

Gertraud SCHARRER

München 1964

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter: Priv. Doz. Dr. K. Stehr

Mitberichterstatter: Prof. Dr. G. Weber

Tag der mündlichen Prüfung: 23. 6. 64

INHALTSÜBERSICHT

	Seite
Einleitung	5
A. Der Einfluß antibiotisch wirkender Substanzen auf die Eigenbeweglichkeit der Bakterien (Literaturübersicht)	7
B. Methodik	11
I. In vitro-Züchtung resistenter Bakterienstämme	11
II. Darstellung der Geißeln	14
C. Ergebnisse	16
I. Veränderungen der Geißeln bei Salmonelle paratyphi B bei:	16
1. Resistenz gegen Chloramphenicol	16
2. Resistenz gegen Tetracyclin	17
3. Das Geißelwachstum bei resistenten Stämmen	18
II. Veränderungen der Begeißelung bei Enteritis coli	19
1. Bei Resistenz gegen Chloramphenicol	19
2. Bei Resistenz gegen Tetracyclin	20
D. Diskussion der Ergebnisse	21
E. Zusammenfassung	24
F. Abbildungen	25
G. Literaturverzeichnis	37



Digitized by the Internet Archive
in 2026

E I N L E I T U N G

Neuere Untersuchungen über die Morphologie und das Verhalten antibiotikaresistenter Erreger (5; 17; 18; 24) haben gezeigt, daß Bakterien der Coli-Gruppe sowie Salmonellen, aber auch zahlreiche andere grampositive Bakterienarten, unter der Einwirkung von Antibiotica häufig einen auffallenden Gestaltwandel erfahren. Bei diesen Untersuchungen haben vor allem die Veränderungen der Bakterienkörper besondere Beachtung gefunden. Sie lassen unter dem Einfluß von Antibiotica zunächst eine Hemmung der Teilungsvorgänge erkennen, die zur Bildung von Riesenformen führt. (Abb. 1)

Mit zunehmender Anpassung der Bakterienpopulation an die jeweilige Konzentration des hemmenden Agens im Nährboden werden Riesenformen seltener, um bei vollständiger Adaptation des Stammes an die gewählte Antibiotikakonzentration völlig zu verschwinden.

Die an das Antibioticum adaptierten Bakterien zeigen wieder eine normale Teilungsfähigkeit und sind auch morphologisch dem ursprünglich empfindlichen Ausgangsstamm sehr ähnlich. Bei einer weiteren Steigerung des Antibioticagehaltes im Nährboden wiederholt sich dieser Vorgang mit Bildung von Riesenformen erneut. Die Anpassung der Bakterien an das Antibioticum ist daher eine graduelle und nicht eine absolute.

Antibioticariesenformen sind von den verschiedenen Untersuchern auch in vivo bei Behandlung mit einigen Medikamenten nachgewiesen worden. (3; 10;)

Den Veränderungen des Geißelapparates unter der Einwirkung antibiotischer Substanzen bei den beweglichen Formen enteropathogener Keime wurde bisher weniger Beachtung geschenkt. Dies ist teilweise durch die Schwierigkeiten begründet, die sich beispielsweise der Darstellung der sehr zarten Geißeln von Colibakterien entgegenstellen. (METZ (9), LIPPERT (8))

Erst die Verwendung einer von GRAY (4) und LEIFSON (7) entwickelten und von STEHR (19) modifizierten Färbemethode ermöglichte die Darstellung von Geißeln auch feinerer Struktur, die aus naheliegenden Gründen leicht abreißen und sich durch robustere Methoden kaum darstellen lassen.

In der folgenden Arbeit sollen daher die durch Einwirkung der Antibiotica Chloramphenicol und Tetracyclin hervorgerufenen Veränderungen am Geißel-

selapparat bei enteropathogenen Coli und Salmonellen unter Verwendung der modifizierten LEIFSON-Färbung untersucht werden.

A. DER EINFLUSS ANTIBIOTISCH WIRENDER SUBSTANZEN AUF DIE EIGENBEWEGLICHKEIT DER BAKTERIEN (Literaturübersicht)

Im Jahre 1946 beschrieb THEMANN, (25) daß unter der Einwirkung von Sulfonamiden die Beweglichkeit gramnegativer Darmbakterien herabgesetzt wurde. Er beobachtete, daß bei Sulfonamidkonzentrationen von 50 bis 100 mg% die Eigenbeweglichkeit verschiedener Stämme von *Salmonella typhi*, paratyphi B sowie *Escherichia coli* aufgehoben wurde. Die Geißeldarstellung nach dem Verfahren von LÖFFLER, modifiziert nach FISCHER, ließ bei diesen Stämmen eine Begeißelung der Keime bis zu einer Konzentration von 50 mg% Globucid erkennen. Die Geißeln waren jedoch verkürzt, perlschnurartig verdickt und von geringerer Anfärbbarkeit als die Geißeln nicht unter Sulfonamidwirkung stehender Bakterien.

Nach Einwirkung höherer Sulfonamidkonzentrationen konnten Geißeln nicht mehr nachgewiesen werden. THEMANN ließ dabei die Möglichkeit offen, daß eine Begeißelung dieser Keime wohl noch vorliegen könnte, mit der von ihm gewählten Methode jedoch nicht mehr darzustellen war.

Ebenso wurde von COFFEY, SCHWAB und EHRLICH (1) eine zunehmende Unbeweglichkeit verschiedener Stämme von *Escherichia coli* bei der Resistenzentwicklung gegen das Antibioticum Chloramphenicol beobachtet. Ähnliche Ergebnisse brachten auch die phasenkontrastmikroskopischen Untersuchungen von SAGEBIEL (16), der bei der Resistenzentwicklung von *Salmonella typhi* und paratyphi B gegenüber Chloramphenicol eine deutliche Herabsetzung der Bakterienbeweglichkeit feststellte. Gleichartige Resultate zeigten auch die Untersuchungen von FISCHER (2), der unter Aureomycinwirkung auf *Proteus*-Bakterien in unterschwelligen Konzentrationen von 1 - 10 mcg/ml Bouillon eine Stimulierung der Eigenbewegung beobachten konnte. Mittlere Konzentrationen von 25 mcg/ml Nährmedium hemmten die Motilität der Keime. Die Eigenbewegungen der Keime ließen sich dann bei einer Konzentration von 250 mcg/ml Nährbouillon nicht mehr nachweisen. Die Beweglichkeit wurde im hängenden Tropfen geprüft. FISCHER bediente sich dabei folgender Methode: mittels schwarzer Papierstreifen engte er das Gesichtsfeld spaltförmig ein, dann wurde die Anzahl der Keime ermittelt, die in der Zeiteinheit das Gesichtsfeld passierte. In Parallelversuchen beobachtete er dabei die Beweglichkeit der Bakterien an Hand ihres Schwärmvermögens auf entsprechenden Nährböden.

RAETTIG und BUSE (15) berichteten ausführlich über die Einwirkung von Penicillin auf *Hämophilus influenzae*. Sie beobachteten die Bildung von sogenannten "Filamenten", d.h. fadenförmigen Strukturen, die dichte Geflechte um die Bakterienkörper bildeten. STEHR (21) beschrieb derartige Gebilde ebenfalls bei Einwirkung von Penicillin auf *Enteritis Coli* und *Salmonellen*.

Geißelveränderungen bei *Salmonella paratyphi B* durch Zusatz von LiCl und CsCl zum Nährboden wurden von METZ (9) dargestellt. Er konnte sowohl Riesenformen als auch resistente Modifikationen auf Lithium- bzw. Cäsiumchloridhaltigem Nähragar züchten. METZ konnte nachweisen, daß bei den rundlichen Li-Riesenformen die Geißeln länger und zahlreicher waren als die des Ausgangsstammes. Die auf CsCl-haltigem Nährboden gewachsenen langen Fadenformen waren mit zahlreichen kürzeren und zarteren Geißeln besetzt.

Die LiCl-resistenten Varianten der von METZ untersuchten Stämme wiesen eine im Verhältnis zum Ausgangsstamm zahlenmäßig reduzierte Begeißelung mit kürzeren und plumperen Geißeln auf, während die Cäsiumchlorid-festen *Salmonellen* eine verminderte Besetzung mit geringgradig verlängerten Geißeln erkennen ließen.

Einen weiteren Beitrag zur Morphologie von *Salmonella typhi* bei Chloramphenicolresistenz brachten WEINER und SWANSON (26). Diese Autoren konnten nachweisen, daß bei einer Chloramphenicolfestigkeit von 20 mcg/ml Nährboden die Beweglichkeit der Bakterien bereits wesentlich eingeschränkt war. Bei einer Resistenz von 200 mcg/ml Chloramphenicol/ml Nährmedium waren die *Salmonellen* vollständig unbeweglich und behielten die Unbeweglichkeit auch nach 30 Passagen auf antibioticafreiem Nährboden bei. Geissein ließen sich bei diesen Bakterien elektronenoptisch nicht darstellen.

Erfolgte die Züchtung der Bakterien nicht bei einer Bebrütungstemperatur von 37 Grad C, sondern bei Zimmertemperatur, so gelang es dem gegen Chloramphenicol-festen Stamm (20 mcg/ml), die lebhafteste Beweglichkeit des Ausgangsstammes zurückzugewinnen. Die unbewegliche Variante mit der Chloramphenicolresistenz von 200 mcg/ml Agar wurde nach Züchtung bei Raumtemperatur wieder schwach beweglich.

Der Verlust der Geißeln wurde von WEINER und SWANSON in Übereinstimmung mit WISSEMANN, SMADEL, HAHN und HOPPS (27) ebenso wie die Riesenformbildung und das unter Chloramphenicolinfluß stets zu beobachtende langsamere Wachstum der Keime auf eine Blockierung der Proteinsynthese der Bakterien zurückgeführt.

Da die Geißeln auch antigene Eigenschaften haben, war zu erwarten, daß bei einer Veränderung des Geißelapparates neben Beweglichkeitsänderungen auch Unterschiede in der Agglutinierbarkeit auftreten. So berichteten STICKL und GAERTNER (23) über einen Ausfall der H-Agglutination bei sulfonamidgeschädigten BRESLAU- und SCHOTTMÜLLERbakterien. Auch THEMANN (25) machte die Feststellung, daß sich im Laufe der Resistenzentwicklung gegen steigende Sulfonamidkonzentrationen die Beweglichkeit und damit parallellaufend auch die H-Agglutinierbarkeit dieser Bakterien durch homologe Seren verringerte. Dennoch zeigte sich bei der Immunisierung von Kaninchen mit diesen durch Sulfonamid vorgeschädigten Bakterien keine Störung der H-Antikörperbildung. Die Schädigung des Geißelapparates führte also nicht zu einer Abschwächung der antigenen Eigenschaften.

Auch SAGEBIEL (16) prüfte den Einfluß von Chloramphenicol auf die Antigene der Salmonellen. Er fand dabei, daß unter Antibiotikakonzentrationen von 0,025 mcg bis 6 mcg/ml Bouillon die Agglutininbindungsfähigkeit des H-Antigens bis zum Nullwert absank. Aus diesem Verlust des H-Antigens schloß er auf eine Schädigung der Begeißelung.

Ebenso fand PONZONI (13) bei *Salmonella typhi*, die gegen subbakteriostatische Chloramphenicolkonzentrationen resistent waren, eine deutliche Verminderung des H-Antigens. Auch WEINER und SWANSON (26) stellten neben dem beschriebenen Verlust der Beweglichkeit und der Begeißelung Unterschiede in der Antigenstruktur zwischen Ausgangsstamm und resistenten Modifikationen der Salmonellen fest. Die zunächst unbeweglichen und nach Züchtung bei Zimmertemperatur wieder schwach beweglichen Bakterien wurden durch stark H-antigenhaltiges Serum noch schwach agglutiniert. Bei der Resistenz gegen mittlere Antibiotikakonzentrationen war das Agglutinationsvermögen gegen H-Antiserum ebenfalls deutlich herabgesetzt, konnte aber durch Züchtung bei Zimmertemperatur gleichzeitig mit der Beweglichkeit in vollem Umfang zurückgewonnen werden. In Übereinstimmung mit diesen Untersuchungen stellte auch du PASQUIER (12) eine verminderte Beweglichkeit von Salmonellen bei experimentell erzeugter Resistenz gegenüber dem Antibioticum Chloramphenicol fest.

Faßt man die in der Literatur wiedergegebenen Untersuchungsergebnisse zusammen, so läßt sich übereinstimmend eine Verminderung der Beweglichkeit bei Salmonellen und Coli- sowie auch bei Proteusbakterien feststellen, die entweder in antibioticahaltigem Milieu gezüchtet wurden oder gegen dieses eine Resistenz entwickelt hatten. Nach den Angaben der Literatur

ist jedoch nicht sicher zu entscheiden, ob die verminderte Beweglichkeit auf eine fehlende bzw. gestörte Geißelentwicklung zurückzuführen ist, zumal einige Untersuchungsergebnisse (METZ (9) u. a.) darauf hindeuten, daß im Rahmen der morphologischen Veränderungen neben einer Verminderung des Geißelapparates auch eine Hypertrophie möglich ist.

Im Folgenden sollen daher die morphologischen Veränderungen untersucht werden, die bei der Resistenzentwicklung von *Escherichia coli* und *Salmonella paratyphi* B gegenüber den Antibiotica Tetracyclin und Chloramphenicol am Geißelapparat auftreten.

B. METHODIK

I. IN-VITRO-ZÜCHTUNG RESISTENTER BAKTERIENSTÄMME

Bei den Versuchen wurden 2 Stämme von *Salmonella paratyphi* B verwendet: ein älterer Laborstamm L 476 und ein frischisolierter Stamm Paratyphus B SCHOTTMÜLLER. Diese Stämme wurden in fortlaufenden Passagen auf festen Nährböden gezüchtet, denen Antibiotica in steigender Konzentration zugesetzt waren.

Das Nährsubstrat bestand aus folgenden Substanzen:

Pepton e carne trypticum (MERCK)	25,0
Kochsalz (MERCK)	5,0
Difco-Bacto-Agar	25,0
Aqua dest. ad	1000,0

Mit Natronlauge wurde ein pH von 7,4 eingestellt und das Gemisch im Autoklaven sterilisiert. Die mit je 5 ml des noch flüssigen Nähragars beschickten Schrägröhrchen kamen nach dem Erstarren in den Brutschrank, wo sie zur Sterilitätsprüfung jeweils 24 Stunden lang bei 37 Grad C bebrütet wurden.

Als Antibiotica fanden Chloramphenicol (Paraxin-Pulver der Firma BÖHRINGER & Söhne, Mannheim) und Tetracyclin (Hostacyclin der Firma HÖCHST AG) Verwendung.

Die Ausgangsempfindlichkeit der Bakterien gegenüber diesen Antibiotica wurde durch Züchtung auf einer Agarschrägröhrchenverdünnungsreihe mit unterschiedlichem Antibioticazusätzen von 20 - 0,31 mcg/ml ermittelt:

In jedem Reagenzglas befand sich die Hälfte der Antibioticamenge des vorhergehenden Glases. Allen Röhrchen wurde jeweils 4 ml flüssigen Nähragars mit einer Temperatur von 45 Grad C zugesetzt, so daß Schrägröhrchen mit gleichmäßig fallenden Antibioticakonzentrationen entstanden. Nach der Sterilitätsprüfung wurden diese Agarröhrchen beimpft und für 24 Stunden in den Brutschrank gebracht.

Die Bestimmung der Ausgangsempfindlichkeit der Salmonellen gegenüber den verwendeten Antibiotica führte zu folgendem Ergebnis:

Der Laboratoriumsstamm L 476 zeigte auf Chloramphenicolhaltigen Nährböden bei 0,31 mcg/ml ungehemmtes Wachstum in dichtem Rasen, mikroskopisch waren vereinzelt Riesenformen sichtbar. Bei einer Chloramphenicolkonzentration von 0,62 mcg/ml Nährsubstrat war das Bakterienwachstum spärlich bei gleichzeitigem Auftreten vieler Riesenformen im mikroskopischen Präparat. Auf allen Nährböden mit höheren Chloramphenicolkonzentrationen wurde die Keimvermehrung gehemmt. Gegen Tetracyclin war der Laboratoriumsstamm L 476 weniger empfindlich. Er wuchs bei Konzentrationen von 0,31 mcg/ml und auch noch von 0,62 mcg/ml Nähragar unter Bildung eines Bakterienrasens. Das mikroskopische Bild glich bei einer Konzentration von 0,31 mcg/ml dem des Ausgangsstammes, bei 0,62 mcg/ml traten einzelne Riesenformen auf. Bei einer Tetracyclinkonzentration von 1,25 mcg/ml Nährboden war das Bakterienwachstum eingeschränkt, mikroskopisch fanden sich massenhaft Riesenformen, die den in Abbildung 1 wiedergegebenen entsprachen. In den Röhrchen mit Tetracyclinkonzentrationen über 1,25 mcg/ml war keine Keimvermehrung mehr zu erkennen.

Der unmittelbar aus Patientenstuhl isolierte Stamm Paratyphus B Schottmüller wuchs in den Röhrchen bis zu einer Chloramphenicolkonzentration von 1,25 mcg/ml Nähragar in dichtem Rasen, ohne mikroskopisch erkennbare Abweichung vom Bild des Ausgangsstammes. Bei einer Konzentration von 2,5 mcg/ml traten in dem im übrigen noch gleichmäßig dichten Bakterienrasen vereinzelt Riesenformen auf. In den Röhrchen mit einem Antibiotica-zusatz von 5 mcg/ml wurde das Wachstum spärlich, mikroskopisch ließen sich sowohl Riesenformen wie auch kokkoide Formen nachweisen. Bei höheren Chloramphenicolkonzentrationen war kein Wachstum mehr zu beobachten.

Gegen Tetracyclin war dieser Stamm unempfindlich bis zu einer Konzentration von 50 mcg/ml. Wachstum und Morphologie unterschieden sich auch bei diesen hohen Antibiotica-spiegeln nicht vom Ausgangsstamm.

Die Züchtung der resistenten Stämme *in vitro* begann bei dem Laborstamm L 476 mit Antibiotikakonzentrationen von 0,62 mcg/ml Chloramphenicol bzw. 1,52 mcg/ml Tetracyclin. Bei Paratyphus B Schottmüller betrug die Anfangskonzentration 2,5 mcg/ml Chloramphenicol. Die Bakterien wurden stets dann als resistent gegen das jeweilige Antibioticamillieu angesehen, wenn ihre Wachstumsgeschwindigkeit die des Ausgangsstammes erreicht hatte und in der Kultur keine Riesenformen mehr nachweisbar waren.

Zu Beginn der Resistenzentwicklung wurde der Antibioticazusatz nach Anpassung der Keime an die vorhergehende Konzentration jeweils verdoppelt, nach Erreichen der 20 mcg-Grenze im Nährboden nur noch um Stufen von 10 mcg/ml gesteigert. Die Keime erwarben so eine Antibioticafestigkeit von 50 mcg/ml, was therapeutisch erreichbaren Serumspiegeln entsprechen dürfte.

Neben den beschriebenen Salmonellenstämmen wurde noch mit einem Enteritis-Colistamm 055 und seinen beiden chloramphenicol- bzw. tetracyclinresistenten Varianten gearbeitet, die auf gleichem Wege wie die Salmonellenstämmen in vitro eine Antibioticafestigkeit von 50 mcg/ml Nährmedium erworben hatten.

Mittels Gramfärbung sowie durch Agglutinationskontrolle mit der Objektträgermethode wurde in regelmäßigen Abständen die Reinheit der Kulturen überprüft. Die Beweglichkeit der Bakterien wurde im hängenden Tropfen mit der Phasenkontrast-Optik untersucht.

II. DARSTELLUNG DER GEISSELN

Die Geißeldarstellung wurde nach der von GRAY (4) erstmals angegebenen und später von LEIFSON (7) und STEHR (19) modifizierten Färbemethode durchgeführt. Hierbei handelt es sich um eine Beizfärbung, bei der eine exakte Einhaltung der in Vorversuchen ermittelten optimalen Färbezeiten Vorbedingung für eine auch photographisch auswertbare Darstellung der Geißeln ist.

Im einzelnen wurde folgendes Verfahren angewendet:

Das Farbpulver zur Herstellung der Beizlösung bestand aus

- 1 Gewichtsanteil basischen Fuchsin
- 1,5 Anteilen Kochsalz
- 2,5 Anteilen Gerbsäure.

Nach gründlicher Durchmischung wurden 1,7 g des Pulvers in einer Mischung von 35 ml 96%-igem Alkohol und 65 ml Aqua dest gelöst und in luftdicht verschlossenem Kolben kühl gelagert.

Die verwendeten Objektträger waren zuvor in konzentriertem Alkohol gründlich entfettet und mit Aqua dest sorgfältig abgespült worden. Nach dem Lufttrocknen wurden sie kurz abgeflammt und in sterilen Petrischalen im Brutschrank aufbewahrt. Zur Herstellung der Bakterienaufschwemmung wurde mit einer ausgeglühten und wieder erkalteten Platinöse wenig Bakterienmasse aus einer 24-stündigen Agarkultur entnommen und in etwa 1 ml sterilem, auf 37 Grad C vorgewärmtem destillierten Wasser suspendiert. Die Bakterien mußten im Wasser vorsichtig durch leichte Hin- und Herbewegungen von der Öse abgelöst werden. Es war besonders darauf zu achten, daß die Berührung der Reagenzglaswand vermieden wurde, um die äußerst vulnerablen Geißeln nicht von den Bakterienkörpern abzureißen. Von dieser schwach opaleszenten Bakteriensuspension wurde jeweils eine mit großer Öse faßbare Menge auf den Rand eines in der oben angegebenen Weise vorbereiteten Objektträgers gebracht. Durch Schräghalten des Objektträgers lief nunmehr der Tropfen in breiter Verteilung über das Glas dem anderen Ende zu. Um auch hierbei möglichst wenig Geißeln abreißen zu lassen, war ein sehr langsames Vorwärtsgleiten des Tropfens erwünscht.

Das Präparat wurde dann luftgetrocknet und anschließend sofort mit Farblösung übergossen. Dabei war zu beachten, daß der Objektträger vollständig

mit Farblösung bedeckt wurde, um die Ränder des Präparates frei von Niederschlägen zu halten.

Nach dem Übergießen mit der Beizlösung wurden die Präparate mit dem Bunsenbrenner kurz erwärmt, wobei sich das alkoholische Lösungsmittel entzündete und langsam mit blauer Flamme brannte. Nach dem Verlöschen mußte die Farblösung noch etwa 60 bis 90 Sekunden einwirken und wurde dann mit einem kräftigen Wasserstrahl abgespült. Anschließend wurden die Unterflächen der Objektträger von Farbrückständen gesäubert und die Präparate zum Lufttrocknen aufgestellt.

Die trockenen Präparate wurden mit der Ölimmersion mikroskopiert. Die im Rahmen dieser Arbeit von den Präparaten angefertigten Mikrophotos erstellten wir mit einer Zeiss-Aufsatzkamera unter Verwendung eines Zeissobjektivs. Die Filmempfindlichkeit betrug 14/ 10 DIN.

C. ERGEBNISSE

I. VERÄNDERUNGEN DER GEISSELN BEI SALMONELLA PARATYPHI B

1. Bei Resistenz gegen Chloramphenicol

Die Prüfung der Beweglichkeit der Erreger im hängenden Tropfen ergab, daß der Ausgangsstamm, der in 50. Passage auf gewöhnlichem Nähragar gezüchtet worden war, eine gute Beweglichkeit fast aller Keime in der 20-stündigen Agarkultur erkennen ließ.

Auch bei Züchtung der Erreger auf chloramphenicolhaltigen Nährböden bis zu einer Konzentration von 5 mcg/ml waren noch viele Erreger gut beweglich. Bei längerdauernder Züchtung auf chloramphenicolhaltigem Nähragar und dadurch erworbener Resistenz gegen dieses Chemotherapeuticum über 20 mcg/ml hinaus wurden die Eigenbewegungen der Bakterien zunehmend spärlicher. Bei Anpassung an eine Antibiotica-Konzentration von 50 mcg/ml ließen die Bakterien nur noch eine Zitterbewegung erkennen, die jedoch durch ihren langsameren Bewegungsablauf von der BROWN'schen Molekularbewegung zu unterscheiden war.

Korrespondierend zu diesen Lebendbetrachtungen zeigten die Geißeldarstellungen bei dem gegenüber Chloramphenicol empfindlichen Elternstamm eine peritriche, gleichmäßige Besetzung mit gewellten Geißeln von einer durchschnittlichen Länge von ca. 5 bis 15 μ , wie in Abbildung 3 zu erkennen ist.

Die in Gegenwart von Chloramphenicol gezüchteten, aber noch nicht an dieses Medikament angepaßten Keime, bildeten zum Teil lange Riesenformen, die eine Vielzahl kurzer, zarter Geißeln trugen, manchmal aber auch eine ausgesprochen spärliche Begeißelung aufwiesen (Abbildung 4).

Die gegen Chloramphenicol resistenten Bakterien zeigten an kurzen plumphen Bakterienkörpern auffallend lange, miteinander verflochtene Geißeln bis zu einer Länge von 50 μ , wie in der Abbildung 5 zu erkennen ist. Charakteristisch für die chloramphenicolresistente Variante des Elternstammes waren dabei sowohl vereinzelte Geißeln von großer Länge als auch kürzere, die dann aber knäuelartige Geflechte bildeten. Auffallend war, daß die Geißeln nicht mehr die vom Ausgangsstamm her bekannte gleichmäßig ge-

wellte Form besaßen, sondern mehr gestreckt verliefen und teilweise Abknickungen aufwiesen, die auf einen Bruch bei spröder Beschaffenheit hingenwiesen.

2. Bei Resistenz gegen Tetracyclin

Die fortlaufende Züchtung des Salmonellenstammes auf tetracyclinhaltigen Nährböden mit allmählich steigender Konzentration bis zu 50 mcg/ml ergab folgende Veränderungen am Geißelapparat:

Bei einer Nährbodenkonzentration von 2,5 bis 5 mcg Tetracyclin/ml bildeten sich in 20 bis 24 Stunden alten Kulturen deutlich größere Riesenformen als in den entsprechenden chloramphenicol-haltigen Nährböden. Wie die Abbildung 6 erkennen läßt, waren die Riesenformen ebenfalls peritrich begeißelt mit einer mehr büschelförmigen Anordnung der Geißeln an den Polen. Dazwischen waren auch längere geißelfreie Abschnitte sichtbar. Im Durchschnitt waren die unter Tetracyclineinfluß entstandenen Riesenformen nicht nur größer als Chloramphenicolriesenformen, sondern auch zahlreicher und mit deutlich längeren Geißeln von ca 100 μ Länge besetzt. Entsprechend diesen Befunden war die Beweglichkeit dieser Kulturen im hängenden Tropfen stark herabgesetzt, wenn auch zwischen den fast unbeweglichen Riesenformen noch zahlreiche kleinere, gut bewegliche Keime zu beobachten waren. Die Verlängerung der noch leicht gewellten Geißeln war bei den an eine Tetracyclinkonzentration von 50 mcg/ml angepaßten Salmonellen besonders auffallend. Abbildung 7 zeigt eine Gruppe von kurzen plumpen tetracyclinfesten Erregern, die von einem dichten, aus langen Geißeln bestehenden Netzwerk umgeben sind. An dem mittelständig liegenden Bakterium erkennt man deutlich, daß auch hier die peritriche Form der Begeißelung erhalten geblieben ist. Im Gegensatz zu der chloramphenicolresistenten Variante war hier die extreme Verlängerung des Geißelapparates unter Tetracyclineinfluß besonders deutlich.

Beim Herstellen der Präparate erwiesen sich die überlangen Geißeln der tetracyclinfesten Modifikation als deutlich widerstandsfähiger gegenüber mechanischer Beanspruchung. Sie rissen nicht so leicht vom Bakterienleib ab wie bei der chloramphenicolresistenten Variante. Die enge Verflechtung der langen Geißelfäden zeigte sich auch beim Suspendieren des Bakterienrasens in Wasser. Hierbei entstanden zahlreiche spinnengewebeartig zusammenhängende Flocken, die sich nur schlecht in der Flüssigkeit verteilten und als-

bald zu Boden sanken, wobei sie Niederschläge bildeten, die denjenigen bei einer H-Agglutination sehr ähnlich sahen. Anscheinend wurden also durch diese langen Geißelfäden zahlreiche Bakterien dieser Variante zu festen Verbänden zusammengehalten.

Die Zahl der Geißeln, die von den einzelnen Bakterien ausging, lag häufig über derjenigen des Ausgangsstammes. Genaue Geißelzählungen sind jedoch wegen der Vielzahl und Länge der Geißeln und der dadurch bedingten Unübersichtlichkeit der Präparate nicht durchzuführen.

3. Das Geißelwachstum

Da die Frage interessierte, wann die Ausbildung der beobachteten überlangen Geißelfäden erfolgt, wurden bei wachsenden Kulturen des Stammes L 476 in vierstündigen Abständen Stichproben entnommen und diese in der üblichen Weise zur Geißeldarstellung präpariert.

Wie die Bildserie der Abbildung 8 erkennen läßt, sind in der vierstündigen Kultur der chloramphenicolresistenten Modifikation nur wenige und sehr kurze Geißeln zur Darstellung gekommen. In der achtstündigen Kultur zeigte sich bereits ein deutliches Wachstum der Geißelfäden, wenn diese auch noch nicht die Länge der Geißeln des Ausgangsstammes erreicht hatten. Bereits in der zwölfstündigen Kultur ließen sich aber schon Geißeln von erheblicher Länge nachweisen, während in der 16- bzw. 20-stündigen Kultur die bereits beschriebene ausgeprägte Geißelhypertrophie zur Ausbildung kam.

Die Geißelentwicklung bei der tetracyclinresistenten Variante von *Salmonella paratyphi* B wurde nach gleichem Verfahren untersucht. Wie die in der Bildserie 9 a - e wiedergegebenen Mikrophotos erkennen lassen, war zunächst in der vierstündigen Kultur nur eine minimale Geißelbildung feststellbar. Aber bereits in der achtstündigen Kultur fanden sich sehr lange Geißelfäden mit beginnender Verflechtung, die im Durchschnitt schon länger waren als diejenigen 24-stündiger chloramphenicolresistenter Kulturen.

II. VERÄNDERUNGEN DER BEGEISSELUNG BEI ENTERITIS-COLI

1. Bei Resistenz gegen Chloramphenicol

In Ergänzung zu den bei Salmonellen beobachteten Geißelveränderungen wurde auch bei einem Enteritis-Colistamm 0 55 der Einfluß von Chloramphenicol und Tetracyclin auf die Geißelbildung untersucht.

Die Beobachtung der Erreger im hängenden Tropfen ließ bei diesem Enteritis-Coli-Stamm eine lebhafte Beweglichkeit erkennen.

Riesenformen, die unter der Einwirkung von Chloramphenicol bzw. Tetracyclin in Konzentrationen von 1,25 mcg/ml bzw. 2,5 mcg/ml entstanden waren, zeigten praktisch keine Beweglichkeit mehr.

Wie in der Abbildung 10 wiedergegeben ist, stellten sich die Geißeln des gegen Antibiotica empfindlichen Ausgangsstammes sehr zart dar. Sie waren bedeutend schwieriger anzufärben als die des antibioticaempfindlichen Salmonellenstammes. Die Abbildung 10 läßt weiterhin erkennen, wie leicht diese zarten Enteritis-Coligeißeln abreißen. Das Präparat ist übersät mit gewellten, frei schwimmenden Geißeln. Auch bei Enteritis-Coli ist die Begeißelung peritrich, wie besonders im zentralen Bildteil deutlich zu erkennen ist.

In der Abbildung 11 sind unter der Einwirkung von 1,25 cmg Chloramphenicol/ml Nährsubstrat entstandene Riesenformen wiedergegeben. Sie zeigen neben der für dieses Antibiotikum typischen plumpen und gekrümmten Form (STEHR (20)) eine spärliche Besetzung mit langen starren Geißeln, die weitgehend ihre elastisch gewellte Form verloren haben.

Eine weitere Verlängerung der Geißeln bei peritricher Anordnung ließ die chloramphenicolresistente Modifikation des Enteritis-Colistammes erkennen. Die Abbildung 12 zeigt die hier entwickelten überlangen, gestreckten Geißeln, die das gesamte Bild einzeln durchziehen.

2. Bei Resistenz gegen Tetracyclin

Die steigernde Wirkung von Tetracyclin auf das Geißelwachstum, die bei dem Salmonellastamm in allen untersuchten Präparaten deutlich wurde, ließ sich auch beim Wachstum von Enteritis-Coli auf tetracyclinhaltigen Nährböden beobachten. So gibt Abbildung 13 die hypertrophierte Begeißelung von Riesenformen wieder, die sich bei einer Tetracyclinkonzentration von 2,5 mcg/ml Nährboden entwickelt hatte.

Analog zu den Veränderungen der Geißeln bei tetracyclinresistenten Salmonellen waren auch die Geißeln der tetracyclinresistenten Variante von Enteritis-Coli besonders üppig ausgebildet (Abbildung 14). Sie zeigten eine Länge von über 100 μ und waren in wesentlich größerer Zahl vorhanden als bei den chloramphenicolresistenten Erregern. Weiterhin erschienen sie nach Art ihrer Lagerung weniger rigide zu sein, da die bei den chloramphenicolfesten Bakterien häufig vorhandenen Knickbildungen nur selten beobachtet wurden.

D. DISKUSSION DER ERGEBNISSE

Die von den eingangs zitierten Autoren (1; 2; 16; 25; 26) beschriebene verminderte Beweglichkeit antibioticaresistenter enteropathogener Erreger erfährt durch die beobachtete Geißelhypertrophie bei chloramphenicol- bzw. tetracyclinresistenten Enteritis-Coli und Salmonellen eine Aufklärung.

Wie die Präparate übereinstimmend zeigen, befinden sich die überlangen Geißeln antibioticaresistenter Keime in einem Zustand engen Zusammenhanges. Dadurch wird die Beweglichkeit dieser Kulturen gegenüber den antibioticaempfindlichen Ausgangsstämmen deutlich herabgesetzt bzw. vollständig aufgehoben.

Auch bei einzeln liegenden Keimen muß sehr in Frage gestellt werden, ob diese hypertrophierten Geißelfäden noch in der Lage sind, ihre Fortbewegungsfunktion auszuüben.

Der Verlust der bei antibioticaempfindlichen Erregern vorhandenen elastisch gewellten Form der Geißeln sowie die vielfach sichtbaren Knicke, besonders im Verlauf der Geißeln chloramphenicolresistenter Erreger, deuten darauf hin, daß diese überlangen Geißeln weitgehend ihre Funktionsfähigkeit verloren haben. Weiterhin ergibt die Reibung der langen Geißeln im Verhältnis zu der ihnen innewohnenden Kraft und diese wiederum im Verhältnis zur Bakterienmasse derart ungünstige mechanische Verhältnisse, daß eine aktive Fortbewegung des einzelnen Bakteriums nicht möglich erscheint.

Darüber hinaus zeigen die überlangen Geißeln eine Neigung, sich untereinander zu verflechten sowie durch Adhäsion an Glaswänden oder Umschlingen von Gegenständen, z.B. einer Öse, besonders fest anzuhaften. Die Schwierigkeit, eine antibioticafeste Variante der untersuchten Stämme in eine wässrige Suspension zu bringen, dürften darauf zurückzuführen sein. Die flockige Ausfällung suspendierter antibioticaresistenter Bakterien, die - wie beschrieben - häufig auch ohne Zusatz von agglutinierendem Serum beobachtet werden konnte, dürfte ebenfalls in der Verflechtung und mechanischen Kohäsion der langen Geißeln ihre Erklärung finden.

Die beobachtete Geißelhypertrophie tritt, wie die Untersuchungen über das Geißelwachstum ergeben haben, schon in einem frühen Stadium der wachsenden Kulturen ein, so daß die Bakterien sich bereits nach wenigen Stunden in dem Zustand einer "mechanischen" Agglutination befinden, die eine aktive

Ortsänderung und damit ein Ausweichen in ein zuträglicheres Milieu verhindert.

Diese mit der Adaptation an die verwendeten Antibiotica erworbene Neigung zur Ausbildung funktionsuntüchtiger, überlanger Geißeln, stellt demnach für die resistenten Modifikationen eine erhebliche Einbuße an Lebendfähigkeit dar. Sie führt in vielen Fällen praktisch zur Unbeweglichkeit der Erreger.

Die anabole Wirkung der Tetracycline ist in der Veterinärmedizin seit längerem bekannt und wird bei der Aufzucht von Jungvieh zur Verbesserung des Gewichtszuwachses praktisch ausgenutzt. Auch bei der Behandlung und Aufzucht von Frühgeborenen wurde diese erwünschte Nebenwirkung der Tetracyclinbehandlung in der Vergangenheit häufig beobachtet (OKLITZ und SCHMIDT (11)) und teilweise bewußt in den Therapieplan eingesetzt.

Umso interessanter erscheint daher die Beobachtung, daß unter Tetracyclineinwirkung sowohl die Bakterienleiber als auch die Geißeln der untersuchten Mikroorganismen regelmäßig größer entwickelt waren als bei den unter vergleichbaren Verhältnissen gezüchteten chloramphenicolresistenten Varianten. Tetracyclin scheint demnach neben der im Vordergrund stehenden wachstumshemmenden Wirkung eine das Einzelgrößenwachstum fördernde Nebenwirkung zu besitzen.

Wenn WEINER und SWANSON (26) bei der Untersuchung ihrer chloramphenicolresistenten Modifikation ebenfalls eine verminderte Beweglichkeit feststellen konnten, jedoch bei elektronenoptischer Untersuchung der Erreger keine Geißeln nachweisbar waren, so stehen ihre Ergebnisse in einem gewissen Gegensatz zu unseren Untersuchungsbefunden.

Es muß jedoch an dieser Stelle nochmals darauf hingewiesen werden, daß gerade die hypertrophierten Geißeln chloramphenicolresistenter Salmonellen besonders rigide und daher auch vulnerable Gebilde darstellen. Wie wir selbst bei den oben beschriebenen Untersuchungen feststellten, verlieren diese Erreger ihre langen Geißeln sehr leicht bzw. werden diese bei der Präparation abgerissen. Die zahlreichen Geißeltrümmer in allen Teilen der Präparate belegen diese Auffassung.

Angeregt durch den von WEINER und SWANSON beobachteten Geißelverlust bei antibioticafesten Salmonellen, untersuchten STEHR, HOFSCHEIDER (22) PREUSS und BENDEL elektronenoptisch einige Stämme von antibiotica-fester Enteritis coli und fanden dabei verlängerte Geißeln, die jedoch im

Gegensatz zu den Ausgangsstämmen ihre gewellte Form verloren hatten und sehr brüchig geworden waren (Abbildung 15 und 16).

Auch in diesen Präparaten ließen sich zahlreiche Bruchstücke nicht gewellter Geißeln nachweisen. Die robustere Behandlung der Erreger bei der Vorbereitung und Fixierung führte dabei zu wesentlich stärkeren Geißelschädigungen als bei der LEIFSON-Methode. In der Abbildung 15 sind diese veränderten, nicht gewellten Geißeln bei einer sechsständigen Kultur eines chloramphenicolresistenten Stammes (50 mcg/ml) sowie einige Bruchstücke von Geißeln zu erkennen.

Der Ansicht von WEINER und SWANSON, daß die Unbeweglichkeit chloramphenicolresistenter Stämme auf einen Verlust des Geißelapparates zurückzuführen sei, kann nach diesen Untersuchungsergebnissen nicht zugestimmt werden. Es muß vielmehr angenommen werden, daß die Unbeweglichkeit der antibioticafesten Varianten durch eine Veränderung der Geißelstruktur im Sinne einer Verlängerung und eines Elastizitätsverlustes bedingt ist.

E. ZUSAMMENFASSUNG

1. Die Einwirkung von Chloramphenicol und Tetracyclin auf wachsende Keime von *Salmonella paratyphi* B und *Enteritis coli* führt in Konzentrationen von 1,25 mcg/ml bzw. 2,5 mcg/ml Nährmedium zur Bildung von Riesenformen, die eine Veränderung des Geißelapparates im Sinne einer Verlängerung und Strukturänderung der einzelnen Geißeln erkennen lassen. Die peritriche Form der Begeißelung bleibt dabei erhalten.
2. Gegen Chloramphenicol bzw. Tetracyclin in einer Konzentration von 50 mcg/ml resistente Erreger dieser Stämme lassen die Geißelverlängerung und die Strukturänderung besonders deutlich erkennen.
3. Die auch von anderen Autoren beobachtete zunehmende Unbeweglichkeit antibioticaresistenter Varianten läßt sich durch diese Veränderungen am Geißelapparat widerspruchsfrei erklären. Beobachtungen, die auf einen Geißelverlust bei resistenten Keimen hindeuten, können dadurch erklärt werden, daß die auffallende Brüchigkeit der strukturell veränderten Geißeln bei weniger schonendem Präparationsverfahren zu einem Verlust der Geißeln führt. Diese Geißeln entziehen sich so dem optischen und auch dem Nachweis durch Agglutinine.
4. Tetracyclin fördert in Analogie zu den Veränderungen an den Bakterienleibern die Ausbildung überlanger Geißeln bei Riesenformen und resistenten Varianten stärker als Chloramphenicol.



Abb 1: 9-stündige Kultur eines Stammes von *Salmonella paratyphi B* gewachsen bei einer Tetracyclinkonzentration von 5 mcg/ml Agar. Phasenkontrast, Vergr. 1000-fach.

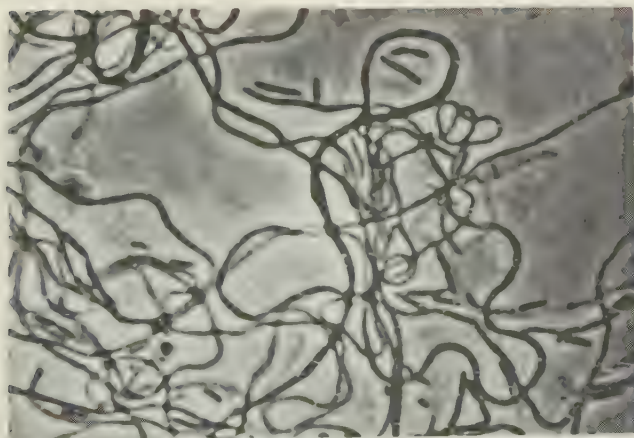


Abb 2: 15-stündige Kultur von *Escherichia coli* O 55, gewachsen auf Nähragar bei einer Penicillinkonzentration von 10 IE/ml. Phasenkontrast, Vergr. 1000-fach.

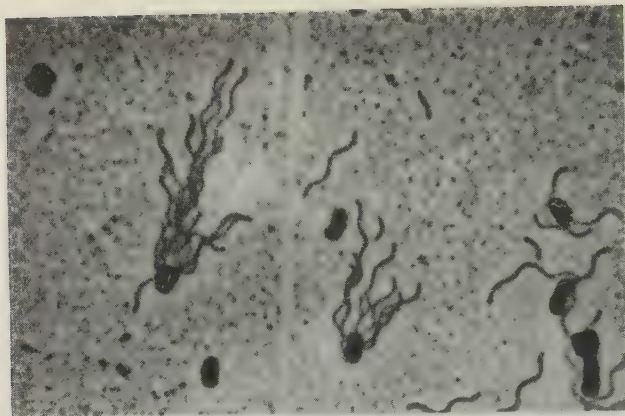


Abb. 3: Peritriche Begeißelung des antibioticaempfindlichen Ausgangsstammes von *Salmonelle paratyphi* B. 20-stündige Kultur, mod. LEIFSON-Färbung. Vergr. 1000-fach.

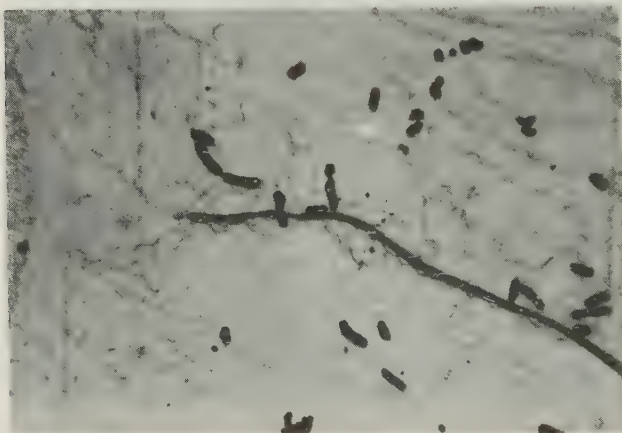


Abb. 4: Durch Chloramphenicolwirkung auf *S. paratyphi* B entstandene Riesenform, gewachsen bei 1,25 mcg/ml Nährboden 20-stündige Kultur, mod. LEIFSON-Färbung, Vergr. 1000-fach.

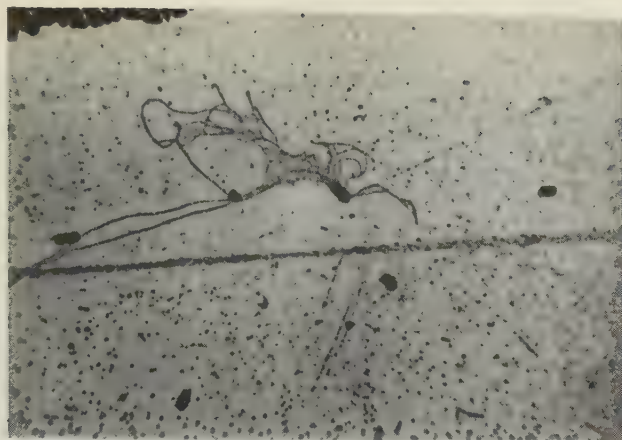


Abb. 5: Begeißelung der chloramphenicolresistenten Variante (50 mcg/ml) von *Salmonella paratyphi* B. 20-stündige Kultur, mod. LEIFSON-Färbung, Vergr. 1000-fach.

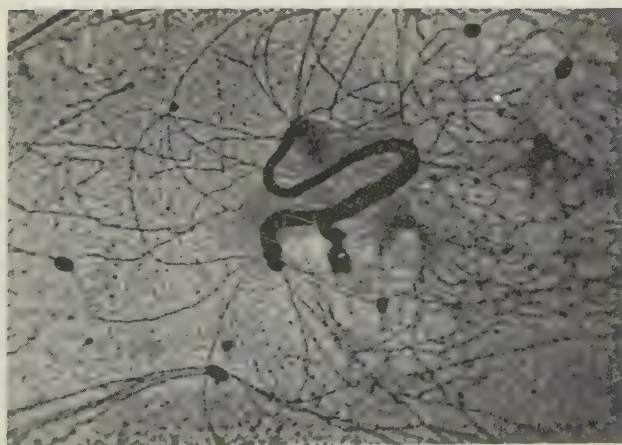


Abb. 6: Bei einer Tetracyclinkonzentration von 2,5 mcg/ml Agar gewachsene Riesenform mit stark hypertrophierten Geißeln. 20-stündige Kultur, mod. LEIFSON-Färbung, Vergr. 1000-fach.

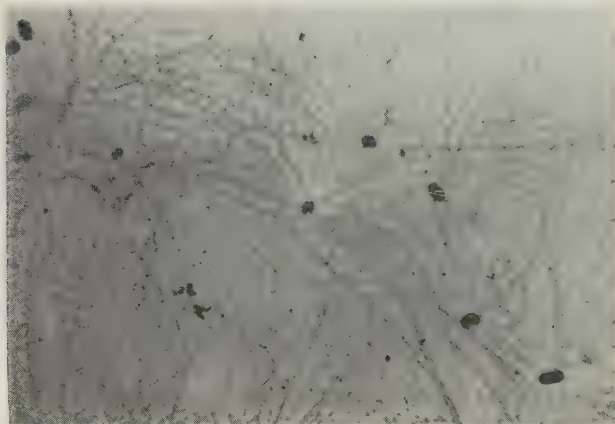


Abb. 7: Gegen eine Tetracyclinkonzentration von 50 mcg/ml resistente Modifikation von *S. paratyphi* B mit einem dichten Netzwerk aus stark verlängerten, noch gewellten Geißeln. 20-stündige Kultur, mod. LEIFSON-Färbung, Vergr. 1000-fach.



Abb. 8 a-e: Darstellung des Geißelwachstums bei der Chloramphenicol-resistenten Variante von *Salmonella paratyphi* B, 24-stündige Kultur auf chloramphenicolhaltigem Agar (50 mcg/ml) mod. LEIFSON-Färbung, Vergr. 1000-fach.

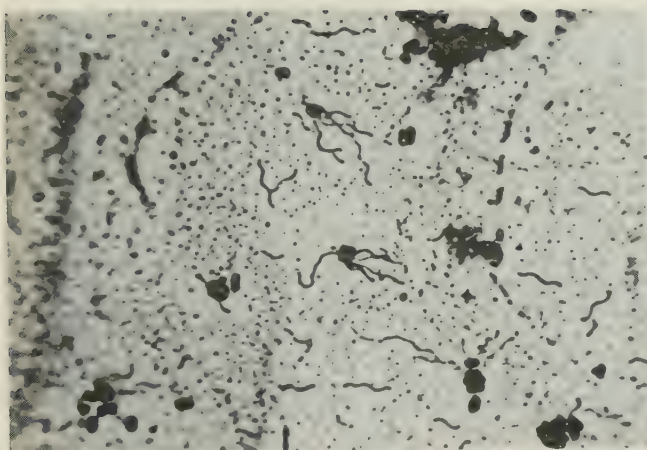


Abb. 8 b: 8-stündige Kultur auf chloramphenicolhaltigem Nähragar.
Mod. LEIFSON-Färbung, Vergr. 1000-fach.

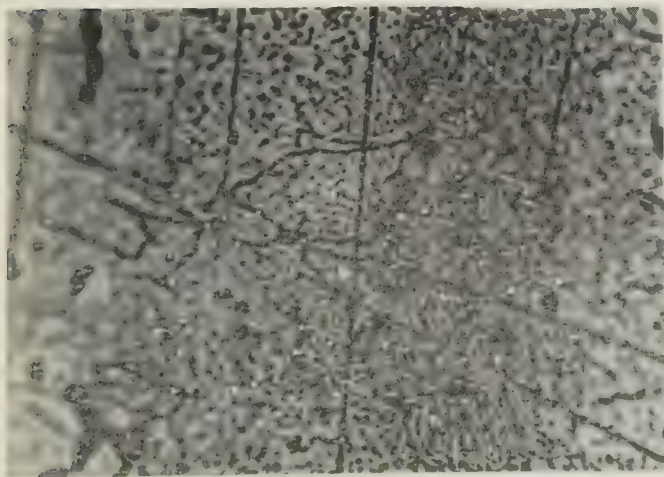


Abb. 8 c: 12-stündige Kultur auf chloramphenicolhaltigem Nähragar
(50 mcg/ml) Mod. LEIFSON-Färbung, Vergr. 1000-fach.

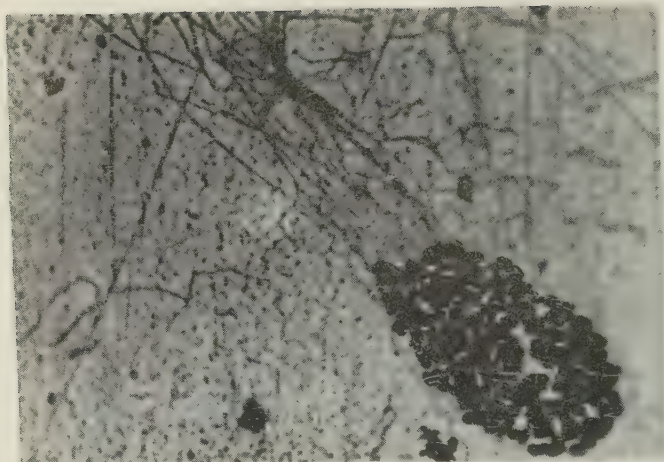


Abb. 8 d: 16-stündige Kultur von *S. paratyphi* B auf chloramphenicolhaltigem Nähragar (50 mcg/ml), mod. LEIFSON-Färbung, Vergr. 1000-fach.

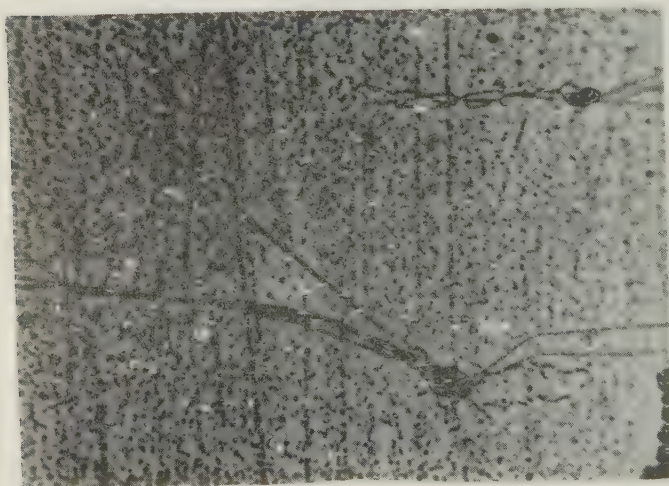


Abb. 8 e: 20-stündige Kultur von *S. paratyphi* B auf chloramphenicolhaltigem Agar (50 mcg/ml), mod. LEIFSON-Färbung, Vergr. 1000-fach.



Abb. 9 a-e: Darstellung des Geißelwachstums bei der tetracyclinresistenten Variante von *Salmonella paratyphi* B.
 a: vierstündige Kultur auf tetracyclinhaltigem Agar (50 mcg/ml), mod. LEIFSON-Färbung, Verg. 1000-fach.

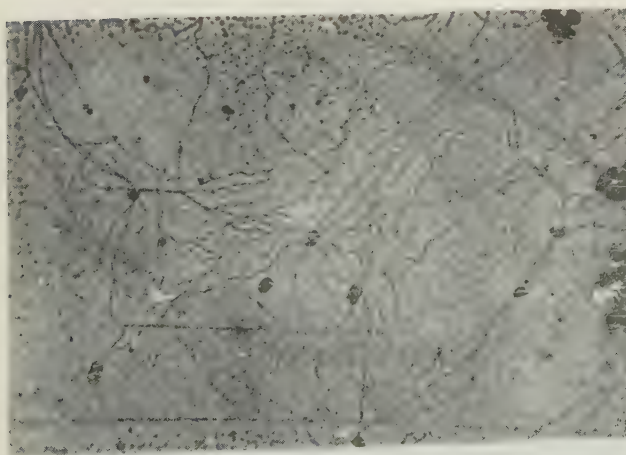


Abb. 9 b: 8-stündige Kultur auf tetracyclinhaltigem Agar (50 mcg/ml), mod. LEIFSON-Färbung, Vergr. 1000-fach.

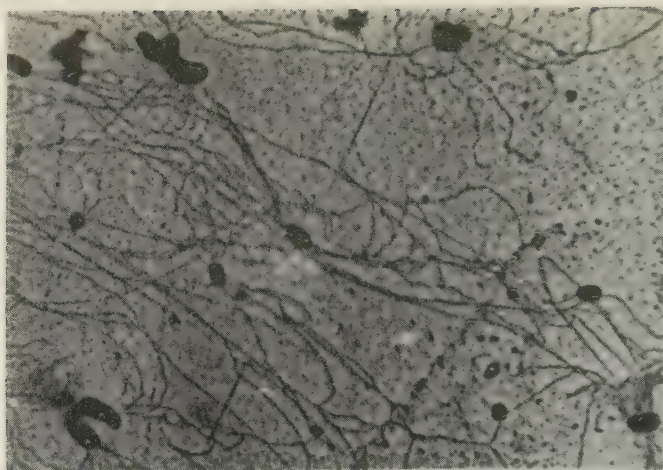


Abb. 9 c: 12-stündige Kultur auf tetracyclinhaltigem Agar (50 mcg/ml),
mod. LEIFSON-Färbung, Vergr. 1000-fach.

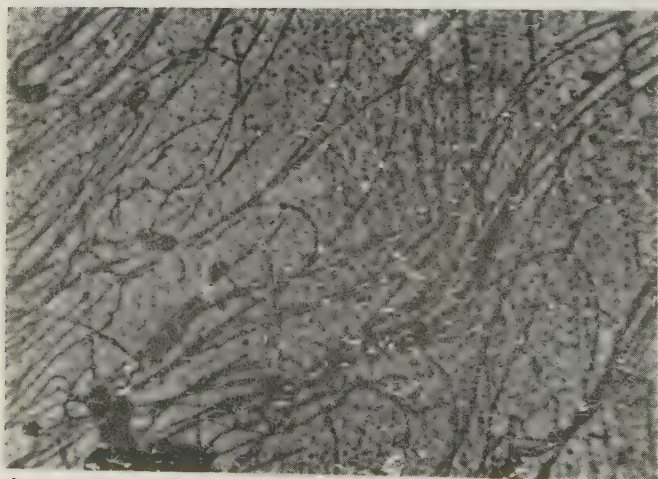


Abb. 9 d: 16-stündige Kultur auf tetracyclinhaltigem Agar (50 mcg/ml),
mod. LEIFSON-Färbung, Vergr. 1000-fach.

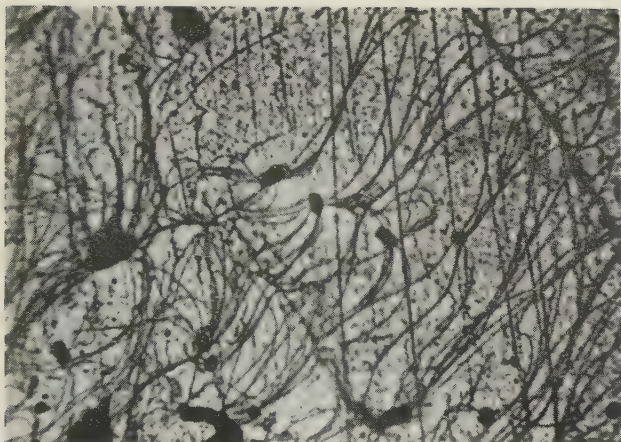


Abb. 9 e: 20-stündige Kultur auf tetracyclinhaltigem Nährboden (50 mcg/ml); mod. LEIFSON-Färbung, Vergr. 1000-fach.

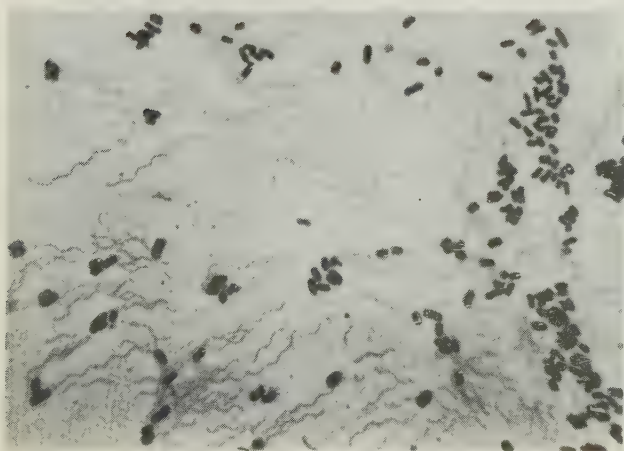


Abb. 10: Begeißelung des antibioticaempfindlichen Ausgangsstammes von Enteritis-coli 0 55.
20-stündige Kultur, mod. LEIFSON-Färbung, Vergr. 1000-fach.

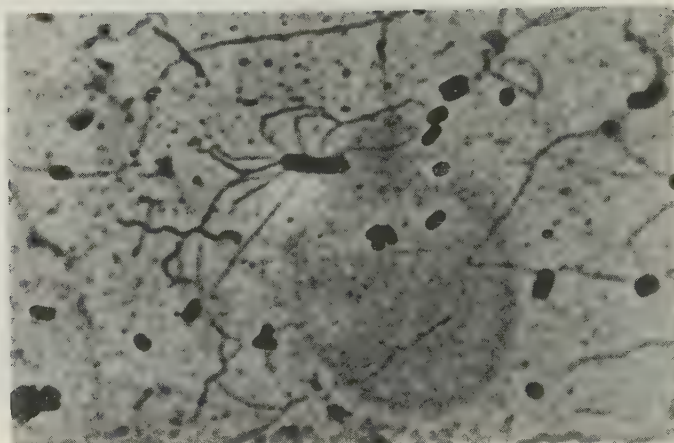


Abb. 11: Durch Wachstum auf chloramphenicolhaltigem Nährboden (1,25 mcg/ml) entstandene Riesenform von Enteritis Coli O 55. 20-stündige Kultur, mod. LEIFSON-Färbung, Vergr. 1000-fach.

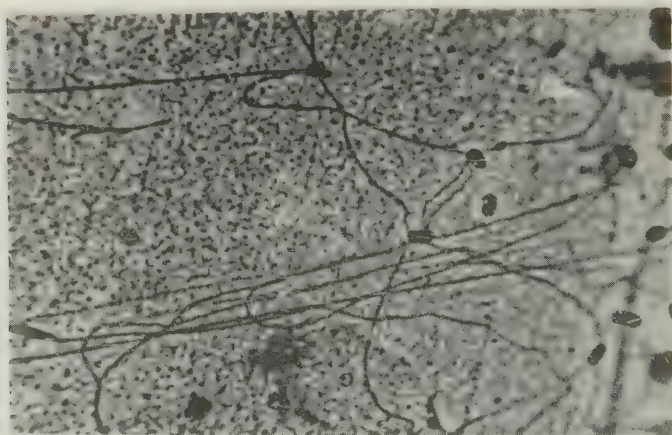


Abb. 12: Geißeln der chloramphenicolfesten Variante (50 mcg/ml) von Enteritis coli O 55; 20-stündige Kultur, mod. LEIFSON-Färbung, Vergr. 1000-fach.



Abb. 13: Durch Wachstum auf tetracyclinhaltigem Nährboden (2,5 mcg/ml) entstandene Riesenform von *Enteritis coli* 0 55. 20-stündige Kultur, mod. LEIFSON-Färbung, Vergr. 1000-fach.

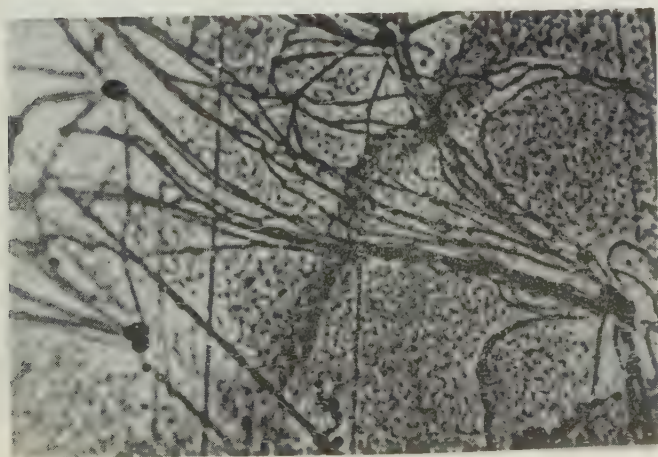


Abb. 14: Geißeln der tetracyclinfesten Modifikation (50 mcg/ml) von *Enteritis coli* 0 55. 20-stündige Kultur, mod. LEIFSON-Färbung, Vergr. 1000-fach.

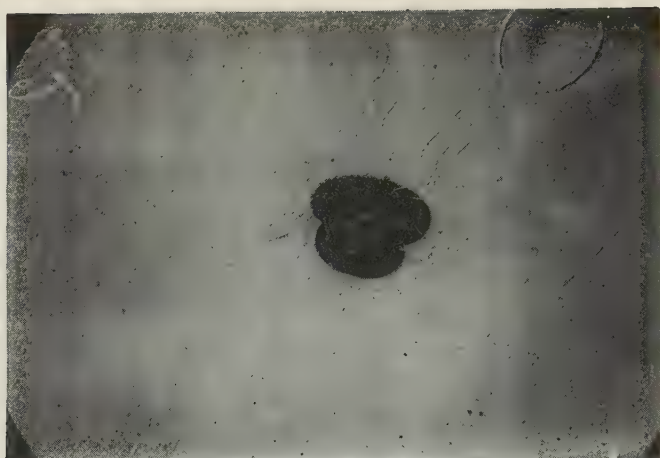


Abb. 15: 8-stündige Kultur von chloramphenicolresistenten *Enteritis coli* 0 55 (50 mcg/ml), elektronenoptische Darstellung, Vergr. 8000-fach. Die sehr zarten, starren Geißeln lassen Knicke erkennen, rechts im Bild ist das Bruchstück einer Geißel sichtbar.



Abb. 16: 8-stündige Kultur von tetracyclinresistenten *Enteritis coli* (50 mcg/ml), elektronenoptische Darstellung, Vergr. 8000-fach. Die langen Geißeln zeigen noch vereinzelt einige Wellen, zahlreiche Bruchstücke in der Umgebung der Bakterien deuten auch hier auf die Vulnerabilität der veränderten Geißeln hin.

LITERATURVERZEICHNIS

1. COFFEY, G.L., SCHWAB, J.L. und EHRLICH, J.:
In vitro studies of bacterial resistance to chloramphenicol.
J. Infections Disease, 87, 142-148 (1950)
2. FISCHER, J.:
Über Wirkungsdivergenz antibiotischer Mittel am Aureomycineffekt
auf Proteusbakterien.
Archiv f. Hygiene, 139, 124-131 (1955)
3. GRASSET, E. und BONIFAS, F.:
Sur l'obtention des formes L de Klebsiella pneumoniae en milieu
liquide et chez la souris sous l'action de la penicillin.
Schweiz. Zschr. Path. 18, 1074-1086 (1955)
4. GRAY, P.H.H.:
A methode of staining bacterial flagella.
J. Bact. Baltimore, 12, 273-274 (1926)
5. HÖPKEN, W. und BARTMANN, K.:
Phasenkontrastmikroskopische Beobachtungen des durch Penicillin
ausgelösten L-Zyklus von Bakt. proteus.
Zbl. Bakt. I. Orig. 162, 372-385 (1955)
6. KAUFFMANN, F.:
Enterobacteriaceae.
Einar Munksgaard, Kopenhagen (1951)
7. LEIFSON, E.:
A methode of staining bacterial flagella and capsules to gether
with a study of the origin of flagella.
J. Bact. Baltimore, MD XX, 203-211 (1930)

8. LIPPERT, E.:
Beiträge zur Biologie der Dyspepsiecoli.
Zbl. Bakt. I. Orig. 171, 298-312 (1958)
9. METZ, H.:
Beiträge zur Morphologie und Biologie der Lithium- und
Caesiumformen der Salmonella paratyphi B.
Zbl. Bakt. I. Orig. 171, 461 (1958)
10. MORITSCH, H.:
Morphologische Veränderungen von Hämophilus influenzae
unter dem Einfluß von Penicillin.
Zbl. Bakt. I. Orig. 161, 366-370 (1954)
11. OCKLITZ, H. W. und SCHMIDT, E. F.:
Die Bedeutung pathogener Colistämme (Dyspepsiecoli) für
die akuten Durchfallserkrankungen des Säuglings.
Arch. Kinderheilk. Beih. 28, 1-106 (1955)
12. du PASQUIER, P.:
Etude de la resistance des Salmonellae à la Chloromycetine.
Ann. Inst. Pasteur, 87, 418-426 (1954)
13. PONZONI, G.:
Variazioni quantitative degli antigeni di batteri tificicrescenti
in contatto di concentrazioni sub- batteriostatiche di chloromicetina.
Boll. soc. med. chir. Modena, 54, 235-241 (1954)
14. RAETTIG, H. J. und BUSE, A.:
Elektronenoptisch nachweisbare Formveränderungen von H.
influenzae unter Penicillineinwirkung.
Zbl. Bakt. I. Orig. 164, 458-465 (1955)
15. SAGEBIEL, F.:
Bakteriologisch-serologische Studien über die Chloramphenicol-
empfindlichkeit der Typhus- und Paratyphusbakterien.
Arch. Hyg. 135, 222 (1951)

16. SCHELLENBERG, H.:
Über die Chromatinsubstanz von *Proteus vulgaris* bei Penicillineinwirkung.
Zbl. Bakt. I. Orig. 161, 425-433 (1954)
17. SCHNAUDER, G.:
Die L-Formen und ihre Rolle in der Entstehung der Penicillinresistenz der Bakterien.
Zbl. Bakt. I. Orig. 162, 151-152 (1955)
18. STEHR, K.:
Über therapieresistente Enterobakterien.
Arch. Kinderheilk. Beih. 49, 44 (1963)
19. STEHR, K.:
Über die Biologie therapieresistenter Enterobakterien und ihre Bedeutung für Klinik und Epidemiologie enteraler Infektionen im Säuglingsalter.
Habilitationsschrift, München 1962
20. STEHR, K, BENDEL, H. und HOFSCHNEIDER, F.:
Elektronenoptische Bilder von Enteritis coli
Mündliche Mitteilung
21. STICKL, H. und GAERTNER, K.:
Untersuchungen über die Wirksamkeit von Sulfonamiden auf die normale und pathogene Darmflora.
Zschr. Hyg. 123, 591-611 (1942)
22. TAUBENECK und MÜLLER, M.R.:
Über die kontinuierlichen Beobachtungen des Formwandels von *Proteus vulgaris* unter Penicillineinfluß.
Zbl. Bakt. I. Orig. 163, 309-312 (1955)
23. THEMANN, H.J.:
Über die Wirkung von Sulfonamiden auf gramnegative Darmkeime.
Deutsche Med. Wschr. 71, 224-227 (1946)

24. WEINER, L.M. und SWANSON, R.E.:
Chloramphenicol-resistant strains of *Salmonella typhosa*,
I. Induction of morphological, cultural and antigenic changes.
J. Bact. 79, 863-868 (1960)
25. WISSEMAN, C.L. SMADEL, J.E., HAHN, F.E. und HOPPS, H.E.:
Mode of action of Chloramphenicol.
I. Action of Chloramphenicol on assimilation of ammonia und on
synthesis of proteins and nucleic acids in *E. coli*.
J. Bact. Baltimore, 67, 661-673 (1954)

Herrn Priv. Dozenten Dr. med. Klemens Stehr bin ich für die Themenstellung sowie für die laufende Unterstützung bei der Durchführung der Arbeit sehr zu Dank verpflichtet.

Dem Direktor der Kinderpoliklinik der Universität München, Herrn Prof. Dr. Gerhard Weber danke ich für die Überlassung des Arbeitsplatzes im Labor und für die Übernahme des Referates.



Lebenslauf

Am 21. Juli 1937 wurde ich als viertes Kind des Studienprofessors Dr. Walter Scharrer und seiner Ehefrau Anna, geb. Bubb in Würzburg geboren.

Vom Herbst 1943 bis zum Sommer 1947 besuchte ich die Volksschule in Behringsdorf bei Nürnberg. Im September 1947 trat ich in die II. Städtische Mädchenoberrealschule in Nürnberg ein und legte an dieser Schule im Juni 1956 das Abitur ab.

Vom Wintersemester 1956/57 an studierte ich das Fach Medizin an der Universität Erlangen und bestand dort im Februar 1959 die ärztliche Vorprüfung. Die beiden ersten klinischen Semester verbrachte ich an der Universität in Freiburg/Breisgau.

Seit dem Sommersemester 1960 war ich an der Ludwig-Maximilians-Universität in München immatrikuliert. Hier bestand ich nach weiteren vier Studiensemestern das medizinische Staatsexamen am 27. Juli 1962.

Die Medizinalassistentenzeit begann ich im September 1962 an der II. Medizinischen Universitätsklinik in München und setzte sie im Juni 1963 in dem Städtischen Krankenhaus Sindelfingen/Württemberg fort. Gegenwärtig bin ich auf der geburtshilflich-gynäkologischen Abteilung als Medizinalassistentin tätig.

